

# 인체 위암세포주에서 半枝蓮의 항암 효능에 관한 연구

심지환 · 이수진 · 김희진 · 박현수 · 김병주\*

부산대학교 한의학전문대학원 양생기능의학부

## Anti-cancer Effects of *Scutellaria barbata* in AGS Human Gastric Adenocarcinoma Cells

Ji Hwan Shim, Soojin Lee, Huijin Gim, Hyun Soo Park, Byung Joo Kim\*

Division of Longevity and Biofunctional Medicine, School of Korean Medicine, Pusan National University

The aim of the study is to investigate the anti-cancer effects of *Scutellaria barbata* in AGS human gastric adenocarcinoma cells. MTT (3-[4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyltetrazolium bromide) assay and caspase 3 or 9 activity assay were carried out to examine cell death with *Scutellaria barbata*. To elucidate the inhibitory effects of *Scutellaria barbata*, cell cycle (sub-G1) analysis and mitochondrial membrane potential were performed in AGS cells after 24 h incubation with *Scutellaria barbata*. *Scutellaria barbata* induced apoptosis in AGS cells by using the MTT assay, the sub-G1 analysis and mitochondrial membrane potential assay. The stronger inhibition effects of AGS cell growth was observed by application of *Scutellaria barbata* combined with several anti-cancer drugs (paclitaxel, 5-fluorouracil, cisplatin, ectoposide, doxorubicin and docetaxel) in comparison to the application of *Scutellaria barbata* or anti-cancer drugs. Our findings provide insight into unraveling the effects of *Scutellaria barbata* in human gastric cancer cells and developing therapeutic agents against gastric cancer.

keywords : *Scutellaria barbata*, Human gastric adenocarcinoma cancer cell, AGS, Anti-cancer drugs

### 서 론

암은 현재 우리나라에서 사망원인 1위를 차지하는 질병으로 향후 환경문제, 수명의 연장, 식문화의 서구화 등으로 암환자의 발생은 더욱 증가할 것으로 예상된다. 암의 정복을 위하여 기존의 암 치료법뿐 아니라 유전자 연구를 바탕으로 다양한 치료법이 개발되어 암의 특성에 따라 단독 또는 병용되고 있으나, 항암제는 암세포 뿐 아니라 정상세포에도 동일하게 적용되기 때문에 그 효능의 한계와 부작용으로 인하여 여러 가지 문제점이 야기되고 있다<sup>1)</sup>. 이로 인해 최근에는 부작용이 적으면서 유효한 천연 유래 항암제의 개발을 위하여 천연물을 대상으로 암 예방 물질의 검색과 개발에 대한 노력이 활발히 전개되고 있다<sup>2,3)</sup>.

반지련(半枝蓮, *Scutellaria barbata*)은 꿀풀과에 속한 1년생 혹은 다년생 식물로, 중국 강소성, 광서, 광둥, 운남성 등에 분포하며 대만에서도 자생한다<sup>4)</sup>. 반지련은 전초에 alkaloid, steroid, flavonoid, phenols 등을 함유하고 있고 뿌리에는 woogonin, 7-D-methyl woogonin 및 기타의 flavonoid가 들어 있다<sup>4)</sup>. 반지련의 성질은 차고 독이 없으며 약간 쓴맛이 나는 약재이다<sup>5)</sup>. 반지련

은 혈액순환을 돕고, 인후염, 편도선염, 타박상 및 피부발진 등의 치료 효능이 있는 것으로 보고되어져 있다<sup>6)</sup>. 반지련을 이용한 항암 연구로는 난소암<sup>7)</sup>, 유방암<sup>8)</sup>, 폐암 세포 성장 억제효과<sup>9)</sup>, 자궁근종세포 활성억제효과<sup>10)</sup>, 항균작용<sup>11)</sup>, 암세포에서의 DNA 합성억제와 암세포 성장 억제효과<sup>12)</sup> 등에 관한 보고가 있다. 아울러 자궁경부암 세포주인 HeLa cell에 대한 농도별 세포독성과 형태학적 변화와 단백질 합성 억제작용<sup>13)</sup>, 성장억제 작용<sup>14)</sup>, 농도별 처치에 따른 시간별 세포활성, 세포 사멸의 신호전달효소와 유전자발현으로 증식억제와 사멸에 미치는 영향<sup>15)</sup>, 반지련의 Methyl chloride 분획이 단핵세포 암주의 sub G1기의 증가와 DNA fragmentation, PARP cleavage에 미치는 영향을 알아본 암세포의 apoptosis에 대한 연구<sup>16)</sup> 등이 있었다. 최근에는 반지련의 메탄올 추출물과 Cisplatin은 HeLa cell에 대해 Morphology의 변화, cell cycle pattern의 변화, apoptosis 분석, 단백질 분석 등에 의해서 apoptosis를 유도하며 병용투여 시 세포사멸의 효과는 증대되었다. 또한 Cisplatin 단독 처치시에 나타나는 apoptosis와는 다른 양상을 보이며, 더욱이 반지련과 Cisplatin의 병용 투여 시에는 반지련과 Cisplatin 각각의 단독 투여시보다 cytotoxicity 효과가 더 강하게 나타났다<sup>17)</sup>. 하지만

\* Corresponding author

Byung Joo Kim, Division of Longevity and Biofunctional Medicine, School of Korean Medicine, Pusan National University, 49, Busandaehak-ro, Mulgeum-eup, Yongsan-si, Gyeongsangnam-do, Korea

E-mail : vision@pusan.ac.kr ·Tel : +82-51-510-8469

Received : 2015/03/16 ·Revised : 2015/04/10 ·Accepted : 2015/04/13

© The Korean Society of Oriental Pathology, The Physiological Society of Korean Medicine

pISSN 1738-7698 eISSN 2288-2529 <http://dx.doi.org/10.15188/kjopp.2015.04.29.2.195>

Available online at [http://society.kisti.re.kr/sv/SV\\_svjsjc03L.do?method=list&poid=ksomp&kojic=DRSRDH&sVnc=v28n5&menuid=1&subid=13](http://society.kisti.re.kr/sv/SV_svjsjc03L.do?method=list&poid=ksomp&kojic=DRSRDH&sVnc=v28n5&menuid=1&subid=13)

항암제로써의 반지련의 효과와 항암제의 효과를 증가시키는 보조제로서의 역할에 관한 체계적인 연구는 이루어지지 않았다. 이에 본 연구에서는 반지련에 의한 항암효과와 기존에 알려진 여러 개의 항암제에 대한 병용투여로 항암의 효과를 증진시키는 유의한 효과를 얻었기에 이를 보고 하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 약제

실험에 사용한 반지련은 한국생명공학연구원 한국식물추출물은행(Plant Extract Bank)에서 구입한 후 사용하였다.

#### 2) 대상 세포주

이 실험에 사용한 인체 암세포는 서울대학교 암세포주은행에서 구입한 위암 세포주 AGS이며, adenocarcinoma의 Histopathology 특징을 나타내고 있다.

#### 3) 항암제

이 실험에서 사용한 항암제는 cisplatin, ectoposide, doxorubicin, 5-fluorouracil, docetaxel, paclitaxel이다. 이 약들은 DNA나 RNA가 손상되어 세포 분열을 제대로 하지 못하는 암세포에 작용하여 apoptosis를 유도한다.

### 2. 방법

#### 1) 암세포의 배양

암세포주는 10% fetal bovine serum (Gibco BRL, MD), 1% broad-spectrum antibiotics (Gibco BRL, MD)가 함유된 RPMI-1640 (Gibco BRL, MD) 배지를 이용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator (Precision Scientific Inc. NY)에서 배양하였고, 세포는 0.1% Trypsin-EDTA (Sigma, MD)를 이용하여 37°C에서 5분간 처리한 후 회수하였다.

#### 2) MTT assay

세포 생존율 측정에는 세포 배양판 (24-well)에 암세포를 1 ml씩 분주하여 24시간 이상 배양 후 반지련을 다양한 농도로 처리한 다음, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 하에서 72시간 배양한 후, MTT용액 (5 mg/ml)을 배양액 최종 부피의 1/10이 되게 첨가 하였다. 3시간 후 배양액을 제거하고 형성된 formazan 침전물을 dimethyl sulfoxide (DMSO) 1 ml로 녹여서 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 3) Flow cytometry를 이용한 세포주기 분석

반지련이 AGS세포의 증식을 억제하는데 있어서 세포주기의 어느 단계를 지연시키는지 flow cytometry를 이용하여 분석하였다. 반지련을 첨가한 배지에서 3일간 배양된 AGS세포를 PBS용액으로 세척한 후, 4°C에서 30분간 70% ethanol로 고정하였다. 고정 후 propidium iodide (Sigma, MD, USA)로 DNA를 염색하여 Becton Dickinson FACStar Flow Cytometry를 이용하여 세포주기를 비교 분석하였다.

#### 4) Mitochondrial membrane depolarization 측정

Mitochondrial membrane depolarization 은 JC-1 fluorescence probe (Molecular Probes, OR, USA)를 이용하여

측정하였다. AGS세포에 JC-1을 37°C 에서 30분 동안 labeling 한 후에 flow cytometry를 이용해서 488-nm excitation과 530/30 또는 585/42 nm bypass emission filters에서 측정하였다. Red fluorescence를 나타내지 않는 세포는 mitochondrial membrane 이 depolarization된 것으로 간주하였다.

#### 5) Caspase 3과 9 assay 측정

Caspase 3 과 9 assay kits를 BioMol (Plymouth, PA, USA)에서 구입하여 측정하였다. 405 nm의 흡광도에서 여러 번 측정하였다.

#### 6) 통계 분석

대조군과 실험군 사이의 통계학적 유의성 검정은 SPSS 16.0 (SPSS Inc, IL, USA)의 Independent t-test를 사용하였으며 유의수준 p<0.05를 사용하였다. 실험결과는 mean ± SD 또는 빈도(%)로 기재하였다.

## 결 과

### 1. 암세포 살상 효과

암세포 살상 효과를 측정하기 위하여 반지련 50, 100, 200, 300, 400 µg/ml의 농도를 AGS세포에 각각 투여한 결과 24시간 후에는 200 µg/ml 이상에서, 72시간 후에는 100 µg/ml 이상에서 뚜렷한 암세포 살상 효과를 볼 수 있었다 (Fig. 1). 24시간 후에는 50 µg/ml에서 86.4 ± 5.0, 100 µg/ml에서 73.3 ± 6.1, 200 µg/ml에서 42.1 ± 10.0, 300 µg/ml에서 9.3 ± 5.1, 400 µg/ml에서 5.94 ± 2.2의 결과를 보였다. 72시간 후에는 50 µg/ml에서 78.2 ± 7.2, 100 µg/ml에서 50.2 ± 6.0, 200 µg/ml에서 3.4 ± 5.2, 300 µg/ml에서 1.5 ± 1.1, 400 µg/ml에서 0.6 ± 1.2의 결과를 보였다. 이러한 결과는 모두 통계적으로 유의하게 암세포 살상 효과가 있다는 것을 확인한 결과로 50 µg/ml이상 농도에서 항암작용이 있음을 의미한다. 이러한 결과로 이후의 항암제와의 병용투여 실험은 반지련 50 µg/ml으로 진행하였다.

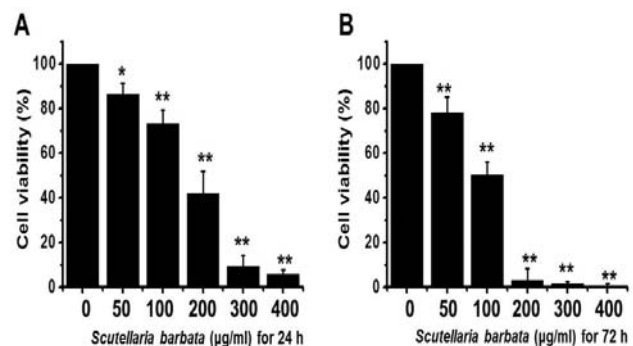


Fig. 1. Effect of *Scutellaria barbata* extract on cytotoxicity in AGS cells. AGS cells were incubated with *Scutellaria barbata* extract as indicated dose (µg/ml). After 24 hs or 72hs, cell viability was measured by MTT assay as described in materials and methods. The values are expressed as percent (%) of control and each column represents the mean ± S.D. \*P<0.05. \*\*P<0.01.

### 2. Flow cytometry를 이용한 세포주기 분석

반지련에 의한 세포사가 apoptosis에 의한 것인지 확인하기 위하여 flow cytometry를 이용한 세포주기 sub-G1분석을 실시하였다. Apoptosis가 일어나면 기존의 fluorescence peak가 왼쪽으로 이동해 새로운 sub-G1 fluorescence peak가 만들어 진다. 대표적인 결과로 24시간 후 sub-G1 변화가 반지련 50 µg/ml에서는 7.4 %, 100 µg/ml에서는 18.1 %, 200 µg/ml에서는 54.7 %, 300 µg/ml에서는 65.3 %의 결과를 보였다(Fig. 2A). 이러한 결과는 모두 통계적으로 유의하며 암세포 살상 효과시 반지련 농도에 비례해서 sub-G1 peak가 증가함을 알 수 있다(Fig. 2B).

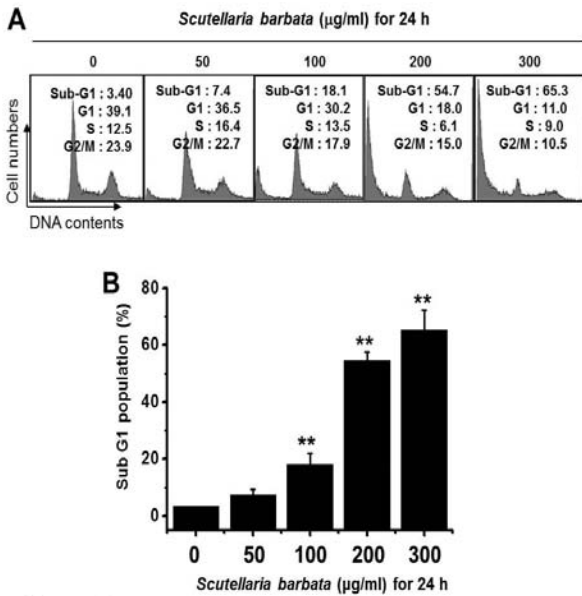


Fig. 2. *Scutellaria barbata* extract leads to increase apoptosis in AGS cells. AGS cells were incubated with *Scutellaria barbata* extract as indicated dose (µg/ml). After 24 hours, sub-G1 peak was measured by FACScan as described in materials and methods. The values are expressed as percent (%) of control and each column represents the mean ± S.D. \*P<0.05. \*\*P<0.01.

3. mitochondrial membrane depolarization 확인

반지련에 의한 apoptosis 기전을 확인하기 위해서 mitochondrial membrane depolarization assay를 실행하였다. Mitochondrial membrane depolarization은 세포내 intrinsic apoptosis signaling 단계에서 나타나는 현상이다. 24시간 후 50 µg/ml에서 26.2±4.1 %, 100 µg/ml에서 39.3±5.0, 200 µg/ml에서 62.3±5.2, 300 µg/ml에서 75.4±4.3의 결과를 보였다(Fig. 3). 반지련에 의해 mitochondrial membrane depolarization을 증가시킴을 알 수 있다.

4. Caspase 3 와 9를 통한 암세포 사멸 확인

반지련에 의한 세포사가 apoptosis에 의한 것인지 확인하기 위하여 농도별로 세포사멸의 진행 정도를 알아보았다. Caspase는 cystinyl aspartate-specific protease로 세포질에서 pro-form으로 존재하고 특정 위치의 proteolytic 과정에 의해 활성화된다. 이로 인해 세포의 DNA복제 및 유전자 발현과 관련된 단백질 및 핵의 구조 유지, 세포의 항상성 유지 등과 관련된 단백질들을 파괴시키거

나 관련된 단백질을 활성화시켜 apoptosis를 유도하게 된다. Caspase 3와 caspase 9 activity를 측정한 결과 반지련에 의해서 caspase 3 와 9 activity가 증가함을 알 수 있다(Fig. 4).

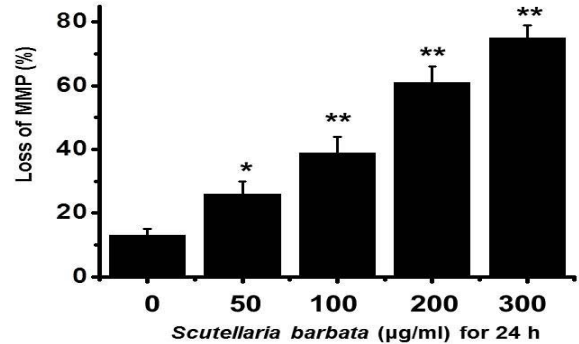


Fig. 3. *Scutellaria barbata* extract leads to increase the mitochondrial membrane depolarization in AGS cells. AGS cells were incubated with *Scutellaria barbata* extract as indicated dose (µg/ml). After 24 hours, mitochondrial membrane depolarization was measured by FACScan as described in materials and methods. The values are expressed as percent (%) of control and each column represents the mean ± S.D. \*P<0.05. \*\*P<0.01.

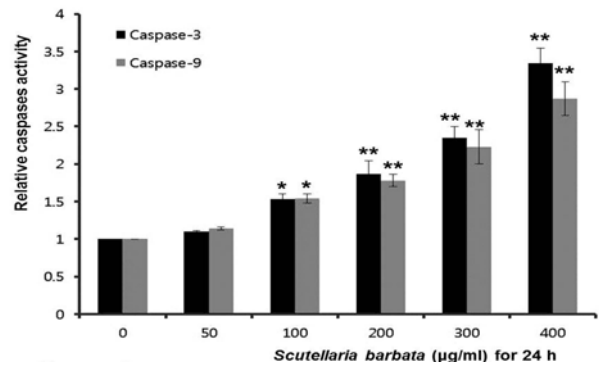


Fig. 4. *Scutellaria barbata* extract increases caspase 3 and 9 activities in AGS cells. Caspase 3 and 9 activities were measured by enzyme assays. The specific activity was obtained from four samples per group. The values are expressed as percent (%) of control and each column represents the mean ± S.D. \*P<0.05. \*\*P<0.01.

5. 위암세포주에 미치는 반지련과 항암제의 병용처치 효과

위암세포주에 미치는 반지련과 항암제의 병용처치 효과를 알아보기 위해 반지련과 항암제를 함께 투여 하였다. 반지련은 세포의 살상효과가 적은 농도로 AGS에서는 50 µg/ml을 투여하였고, 항암제로는 cisplatin, ectoposide, doxorubicin, 5-fluorouracil, docetaxel, paclitaxel을 투여하였다. 먼저 각 세포에서 항암제 단독의 효과를 관찰한 후 반지련과 병용 투여 후 효과를 MTT assay로 관찰하였다. 반지련과 병용투여시 항암작용의 효과가 증가하고 있음을 알 수 있고, ectoposide와 doxorubicin에서 항암작용이 크게 증가함을 알 수 있다(Fig. 5).

6. 세포사멸에 TRPM7 이온통로의 관련성 확인

반지련에 의한 세포 사멸에 어떤 이온통로가 관련되어 있는지를 확인해 보았다. 최근 논문에서 위암세포주인 AGS의 세포 사멸에

일과성 수용체 전압 (Transient Receptor Potential, TRP) melastatin 7 (TRPM7) 이온통로가 관여하고 있음이 밝혀졌다<sup>18</sup>. 따라서 반지련에 의한 AGS세포 사멸에 TRPM7 이온통로의 관련성을 알아 보았다. 먼저 AGS세포에서 TRPM7 전류를 측정할 후 이곳에 반지련을 투여 했을 때 TRPM7에 효능이 없음을 확인 할 수 있었고, 또한 TRPM7을 HEK293세포에 과발현 시킨 후 반지련을 투여해 보니 TRPM7 이온통로 역시 변화없음을 알 수 있었다(Fig. 6A 와 6B). 반지련에 의한 apoptosis에 TRPM7 관련성을 확인하기 위해서 HEK293세포에 TRPM7 발현을 변화 시킨 후 반지련에 의한 반응을 조사해 보았다. Tetracycline-inducible TRPM7 발현 시스템을 이용하였으며 발현감소를 위해서는 tetracycline을 투여하지 않았고 (tet(-)), 과발현 시키기 위해서는 tetracycline을 투여 하였다 (tet(+)). 실험결과 TRPM7이 과발현된 tet(+)인 경우에 반지련에 의한 apoptosis가 잘 일어나지 않았으며(Fig. 6C), 따라서 TRPM7이 반지련에 의한 AGS세포의 apoptosis에는 관여하지 않음을 알 수 있었다.

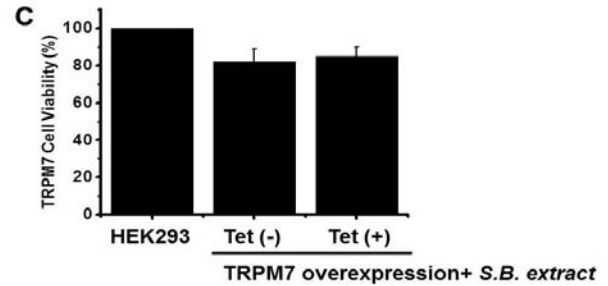


Fig. 6. The effect of *Scutellaria barbata* extract on transient receptor potential melastatin 7 (TRPM7) channel on AGS and overexpressed system in human embryonic kidney (HEK) cells. (A) The effects of *Scutellaria barbata* extract on TRPM7 like currents in AGS cells. (B) The effects of *Scutellaria barbata* extract on TRPM7 currents in TRPM7-overexpressed system in HEK293 cells. (C) TRPM7 cells were treated or not treated with tetracycline for 1 day. Cells were incubated with *Scutellaria barbata* extract, followed by MTT assay. The values are expressed as percent (%) of control and each column represents the mean  $\pm$  S.D.

## 고찰

암은 전 세계 사망원인의 1위를 점하는 질병이며, 앞으로 암 발생은 2020년에는 현재의 2배, 2030년에는 3배에 이를 전망이다<sup>19</sup>. 지난 수십 년간 전 세계적으로 암의 치료법 및 치료제 연구를 위한 막대한 투자가 이루어졌음에도 불구하고 암의 발생률 및 사망률은 줄어들지 않고 있다. 특히 위암은 대한민국, 일본 등에서 가장 높은 빈도를 차지하고 있고, 발병 평균 연령은 54세이며 대부분이 40~60대이나 20대의 젊은 사람들에서 발견된 경우도 3%가량 되며 남자에서 여자보다 2배로 발생빈도가 높다<sup>20</sup>. 암과 관련된 사회적 비용 역시 꾸준히 증가하고 있으며 우리나라의 경우에도 암으로 인한 사회경제적 부담이 수십조원을 넘을 것으로 보고되고 있으며, 이에 따라 암을 예방하거나 치료하는 약물의 개발은 필수적인 사항이 되고 있다<sup>19</sup>.

최근 생활의 변화는 순환기계 질환, 암, 뇌졸중 등 성인병의 증가를 초래하게 되었으며, 이러한 성인병의 치료에 약물이나 의료적인 치료보다는 생활의 조절에 의한 예방의학에 대한 관심이 높아지면서 최근 식품분야에서 생체조절기능을 가지는 기능성 식품 및 건강보조식품의 개발이 급속히 증가하고 있는 실정이다<sup>20</sup>. 화학합성을 통하여 만들어 낸 신약 후보물질들은 인체에 대한 안전성이 검증되지 않았기에, 전 임상 단계에서 장기간에 걸친 안전성 시험이 필요하고 대부분의 후보물질들이 이 단계를 통과하지 못하거나, 임상에서 사용 중에 심각한 부작용이 발견되어 더 이상 사용할 수 없는 경우가 발생하지만 식품이나 식물 등 들어 있는 천연물질들은 장기간의 섭취를 통해 그 안전성이 확보되었기 때문에, 합성을 통해 만들어진 신약후보물질들 보다 부작용에 대한 위험성이 상대적으로 적어 좋은 신약 후보 물질이 될 수 있다<sup>19,21</sup>. 최근 속 추출물을 원료로 하는 동아시아의 위염치료제 "스티렌"과 SK 케미컬의 관절염 치료제 "조인스"의 성공이후 화학 합성물에 비해 인체에 독성을 나타낼 확률이 적은 천연물 유래의 약물을 찾는 방법을 국내 제약계의 신약개발 주요 연구 전략으로 삼고 있다<sup>22</sup>.

반지련은 전초로 줄기는 멩쳐나며 비교적 가는 네모기둥모양이

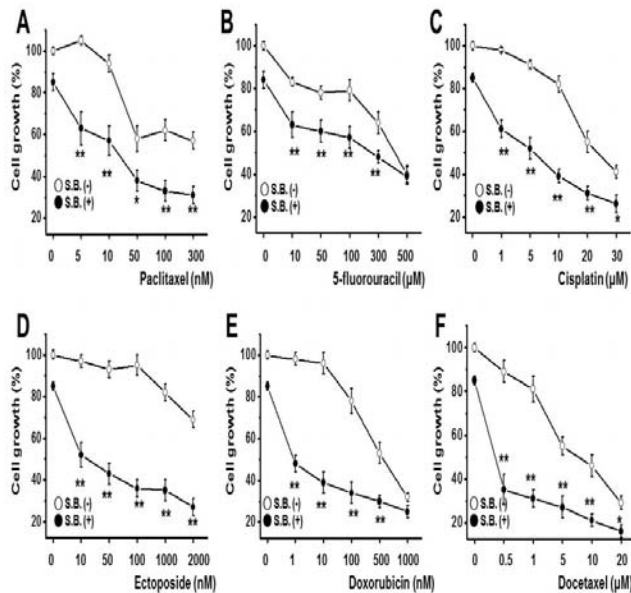
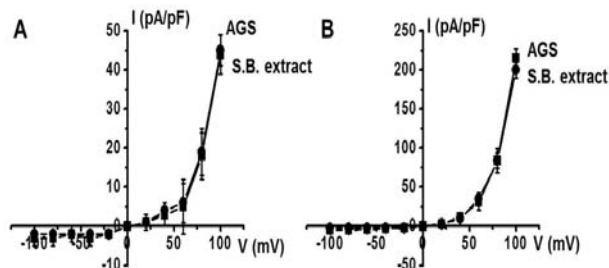


Fig. 5. *Scutellaria barbata* extract increases the chemosensitivity of AGS cells. The AGS cells were co-treated with *Scutellaria barbata* extract at 50  $\mu$ g/ml and chemotherapeutic agents, including paclitaxel (A), 5-fluorouracil (B), cisplatin (C), ectoposide (D), doxorubicin (E) and docetaxel (F), at the indicated concentrations prior to MTT assay. The values are expressed as percent (%) of control and each column represents the mean  $\pm$  S.D. \*P<0.05. \*\*P<0.01.



고 길이는 15~35 cm이다. 바깥면은 어두운 자주색 또는 녹색색이고 잎은 삼각형의 달걀모양 또는 피침형으로 길이 15~30 mm, 너비 5~10 mm정도이다. 윗면은 어두운 녹색이고 아랫면은 회록색이며 가장자리가 밋밋하거나 거치가 뚜렷하지 않고 짧은 잎자루가 있다. 냄새가 약간 있고 맛은 약간 쓰다. 반지련은 다양한 효능 이외에 간암, 소화기암, 자궁암 등의 각종 암치료에 사용되고 있다<sup>7-17)</sup>. 하지만 현재까지 반지련의 암세포에 대한 세포사멸 기전은 명확하게 밝혀지지 않았고 또한 항암제와의 병용투여 효능도 잘 알려져 있지 않다. 이번 연구결과에서 보면 반지련에 의한 위암 세포사멸을 확인할 수 있었고, 이 세포사멸은 sub-G1 phase, mitochondrial membrane potential, caspase 활성화의 측정으로 apoptosis에 의한 현상임을 알 수 있었다. 또한 다양한 항암제와의 병용투여 시 부작용이 많은 항암제의 사용을 줄이면서 효과는 좋은 현상을 밝혔다.

본 연구에서 반지련을 24시간 투여한 결과 200  $\mu\text{g/ml}$  이상에서, 72시간에서는 100  $\mu\text{g/ml}$  이상에서 뚜렷한 항암 효능을 확인할 수 있었다. 고삼에 의한 실험 결과<sup>23)</sup>를 보면 반지련에 의한 효능이 고삼보다 좀 더 좋은 항암효능을 나타냄을 알 수 있고, 따라서 반지련에 대한 연구를 좀 더 깊이 있게 할 필요성이 있음을 알 수 있다. 또한 반지련의 농도에서는 cell viability가 20% 이하로 나오는데 이 경우는 apoptotic cells 뿐만 아니라 necrotic cells도 존재할 가능성이 있다. 하지만 이어서 진행한 실험에서 caspase 3, 9가 농도 의존적으로 증가하는 등 apoptosis일 때 나타나는 특징을 뚜렷하게 보이기 때문에 주로 apoptosis가 일어나는 것으로 생각되어 necrotic cells의 존재 가능성에 대한 특별한 언급을 하지 않았다. 하지만 앞으로 Lactate Dehydrogenase (LDH) assay등을 통해서 necrotic cells의 존재 가능성 등에 대해서 더 연구를 진행할 예정이다. 위암 세포주에서 반지련과 항암제의 병용처치 효과에 paclitaxol, 5-fluorouracil, cisplatin, ectoposide, doxorubicin, docetaxel등을 사용하였다. 이 항암제들은 위암 등 위장관 계통 암에 많이 사용되는 항암제<sup>24)</sup>이기에 반지련과 위암세포주의 병용 투여 효능을 알아 보았다. 이번 실험에서는 반지련과의 병용투여에 의한 항암효능은 doxorubicin에 의해서 가장 좋은 효능이 나타남을 알 수 있었다. 따라서 앞으로 반지련의 항암효능 연구에는 doxorubicin이 좋은 항암제가 될 것으로 생각된다.

TRP 통로는 90년대 중반에 초파리의 시각계에 존재하는 광수용체 (photoreceptor)로 처음 발견되었으며<sup>25)</sup>, 이후 사람을 포함한 고등동물의 세포에도 존재함이 알려지면서 연구가 가속화되고 있다. TRPM7은 많은 종류의 세포막에 존재하고 있고 다양한 기능을 가지고 있다. 세포내  $\text{Mg}^{2+}$  농도 조절에 관여하고<sup>26)</sup>, 신경세포의 어혈순상에 관여하며<sup>27)</sup>, zebrafish의 골격형성에 관여하고 있음이 밝혀졌다<sup>28)</sup>. 또한 꼬마선충에 서의 배변리듬을 조절하고<sup>29)</sup> 림프구의 phosphoinositide-3-kinase 조절에 관여하며<sup>30)</sup>, 위장관에서의 운동조절에 관여하고 있다고 알려지고 있다<sup>31)</sup>. 세포사멸에도 관여함이 잘 알려져 많은 연구실에서 TRPM7의 역할에 관한 연구가 진행되고 있다<sup>18,32)</sup>. 본 연구에서는 반지련에 의한 AGS세포 사멸에 TRPM7 이온통로는 관여하지 않음을 알 수 있었다. 따라서 TRPM7 이외의 다른 TRP 이온통로가 관련성이나 다양한  $\text{K}^+$  이온통로나  $\text{Ca}^{2+}$  이온통로의 가능성도 앞으로 연구해야 할 것으로 생각된다.

한약제와 항암제의 병용투여 효능에 관해서는 다양한 연구들이 진행되어 왔다. 한 등<sup>33)</sup>에 의하면 홍화(safflower)가 인체 대장암 세포주인 HT-29세포와 WIDR세포에서 cisplatin doxorubicin 병용투여시 기존항암제 사용량을 감소해도 좋은 항암효능을 나타냄을 확인하였으며, 김 등<sup>20)</sup>은 인체 위암 세포주에서 홍화의 항암병용효능에 관해서 좋은 효능을 보였다. 또한 고삼 (Sophorae Radix)은 한약에서도 항암효능이 잘 알려져 있는데 임 등<sup>34)</sup>에 의하면 위암세포에서 5-Fluorouracil의 항암효과를 높이는 효능이 있으며, 이 등<sup>35)</sup>에 의하면 인체 유방암세포에서는 doxorubicin의 효능을 증가시키는 것으로 나타났다. 또한 Mitomycin C를 이용하여 백혈구병 세포인 MOLT-4에 9가지 보의제들의 효과를 본 연구도 있고<sup>36)</sup>, 생약복합제와 항암제의 병용투여로 효과를 본 연구<sup>37)</sup>도 있다. 위 논문들은 하나의 항암제에 다양한 한약제제의 효과를 본 논문들로 주로 세포사멸에 관한 연구에 중점을 두었다. 하지만 본 논문은 반지련에 다양한 항암제의 효과를 본 논문들로 많은 사용되는 항암제중에 반지련과 함께 투여시 가장 최선의 효과를 알아본 점에 의의가 있다고 사료된다.

반지련에 의한 항암효과는 그동안 많이 연구되지 않은 분야이고, 몇 실험실에서 연구를 진행하였지만<sup>7-17)</sup> 다양한 항암제와의 병용투여에 관한 체계적인 연구는 이루어지지 않았다. 이번 연구로 항암제와의 병용투여시 반지련에 의한 항암작용 상승효과가 있음을 알 수 있었고 위암으로 고생하는 많은 환자들에게 도움이 되어 삶의 질 향상에 도움이 되길 바란다. 암예방 및 항암 효능을 지니는 기능성 소재의 발굴은 사회적으로 매우 필요하며, 그 경제적, 사회적 가치 또한 매우 크다고 할 수 있다. 이에 안전성이 뛰어나고 효능이 우수한 천연물 및 그 유도체를 합성하고 작용기작을 연구함으로써 암예방 및 항암 소재를 발굴하는 연구가 앞으로도 계속 필요하다고 생각된다.

## 감사의 글

이 논문은 2014년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임 (No. NRF-2014R1A1A2054469).

## References

1. Park, B., Park, J., Cho, C., Yoo, H., Lee, Y. A Case of Breast Cancer Patient Experiencing Adriamycin Cytotoxin and Taxol Side, Effects Managed by Traditional Korean Medicine. Korean Journal of Oriental Internal Medicine. 32(3):451-457, 2011.
2. Lee, I.R., Song, J.Y., Lee, Y.S. Cytotoxicity of Folkloric Medicine in Murine and Human Cancer Cells. Korean Journal of Pharmacognosy. 23(3):132-136, 1992.
3. Kim, S.H. Effects of the Combination of Umbilicaria esculenta Extract and Anticancer Drugs on Human Cancer Cells. Master's dissertation. Korea Polytechnic University, 2010.

4. Lee, E.O., Cha, Y.Y., Lee, J.R., Kang, I.C., Park, Y.D., Ahn, K.S., Kim, S.H. Apoptotic effect of MC fraction of *Scutellaria barbata* in human leukemic U937 cells. *Korean Journal of Oriental Physiology and Pathology*. 17(3):629–632, 2003.
5. Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica*. Science and Technology Press of Shanghai, Shanghai. 343, 1997.
6. Shen, T., Lee, Y.J., Cho, J.Y. Effect of Hot Water Extract from *Scutellaria barbata* on the macrophages activated by lipopolysaccharide. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 16(5):313–319, 2008.
7. Seo, J., Lee, T., Park, W., Kim, C., Kim, D. A Study on Inhibitory Effects of the *Scutellaria barbata* Don Water-extracts on the Growth of Human ovarian carcinoma cells. *The Journal of Oriental Gynecology*. 12(1):151–160, 1999.
8. Kwon, E.J., Kang, H.J., Lee, Y.H., Lee, T.K. Effect of *Scutellaria barbata*. D Don on Mammary Carcinoma cells. *The Journal of Oriental Gynecology*. 12(2):148–182, 1999.
9. Yin, X., Zhou, J., Jie, C., Xing, D., Zhang, Y. Anticancer activity and mechanism of *Scutellaria barbata* extract on human lung cancer cell line A549. *Life Science*. 75(18):2233–2244, 2004.
10. Lee, T.K., Lee, D.K., Kim, D.I., Lee, Y.C., Chang, Y.C., Kim, C.H. Inhibitory effects of *S. barbata* on human uterine leiomyoma smooth muscle cell proliferation through cell cycle analysis. *International immunopharmacology*. 4(3):447–454, 2004.
11. Sato, Y., Suzaki, S., Nishikawa, T., Kihara, M., Shibata, H., Higuti, T. Phytochemical flavones isolated from *Scutellaria barbata* and antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*. 72(3):483–488, 2000.
12. Kim, D.I. Inhibition effect of *Scutellaria barbata* Don Water-extracts on the growth and DNA incorporation of human cancer cells. *Korean Journal of Oriental Medicine*. 27(4):162–173, 2006.
13. Lee, Y.J., Lee, T.K., Kim, J.K., Kim, C.H., Kim, D.I. A Study on Inhibitory Effect of the *Scutellaria barbata* Don Water-extracts on the Growth of Uterine Cervical Cancer. *The Journal of Oriental Gynecology*. 12(1):185–196, 1999.
14. Kim, E.K., Kwon, K.B., Han, M.J., Song, M.Y., Lee, J.H., Ko, Y.S., Shin, B.C., Yu, J., Lee, Y.R., Ryu, D.G., Park, J.W., Park, B.H. Induction of G1 arrest and apoptosis by *Scutellaria barbata* in the human promyelocytic leukemia HL–60 cell line. *International Journal of Molecular Medicine*. 20(1):123–128, 2007.
15. Cho, J.H., Jang, J.B., Lee, K.S., Ha, J.Y. Inhibitory Effects of *Scutellaria barbata* D. Don on the Cell Proliferation of HeLa cells. *The Journal of Oriental Gynecology*. 19(4):47–60, 2006.
16. Cha, Y.Y., Lee, E.O., Lee, H.J., Park, Y.D., Ko, S.G., Kim, D.H., Kim, H.M., Kang, I.C., Kim, S.H. Methylene chloride fraction of *Scutellaria barbata* induces apoptosis in human U937 leukemia cells via the mitochondrial signaling pathway. *Clinica Chimica Acta*. 348: 41–48, 2004.
17. Nam, J.Y., Sung, J.S., Jun, H.I., Lee, J.W., Kwon, S.K., Kim, D.I. Increasing Effects of Apoptosis When Co-treated *Scutellaria barbata* D. Don. with Anti-cancer Drugs. *The Journal of Oriental Obstetrics and Gynecology*. 22(1):125–139, 2009.
18. Kim, B.J., Park, E.J., Lee, J.H., Jeon, J.H., Kim, S.J., So, I. Suppression of transient receptor potential melastatin 7 channel induces cell death in gastric cancer. *Cancer Science* 99(12):2502–2509, 2008.
19. Lee, H.J. Identification of novel anti-cancer or chemopreventive agents by synthetic analogues of natural compounds and their molecular mechanism(s) study. Report. Ministry of Science, ICT and Future Planning. 2011.
20. Kim, J.A., Han, S.E., Song, H.J., Chae, H., Kwon, Y.K., Kim, B.J. Effects of *Carthami Flos* on Human Gastric Cancer Cells. *Korean Journal of Oriental Physiology and Pathology*. 25(3):466–470, 2011.
21. Lee, K.W., Bode, A.M., Dong, Z. Molecular targets of phytochemicals for cancer prevention. *Nature Reviews Cancer*. 11: 211–218, 2011.
22. Lee, S.J. *Korea Folk Medicine*. Seoul National University Publishing Center Press. 1996.
23. Kim, B.J. Involvement of Transient Receptor Potential Melastatin 7 Channels in *Sophorae Radix*-induced Apoptosis in Cancer Cells. *Journal of Pharmacopuncture*. 15(3):31–38, 2012.
24. Thanki, K., Gangwal, R.P., Sangamwar, A.T., Jain, S. Oral delivery of anticancer drugs: challenges and opportunities. *Journal of controlled release*. 170(1):15–40, 2013.
25. Clapham, D.E. TRP channels as cellular sensors. *Nature* 426(6966):517–524, 2003.
26. Schmitz, C., Perraud, A.L., Johnson, C.O., Inabe, K., Smith, M.K., Penner, R., Kuroski, T., Fleig, A., Scharenberg, A.M. Regulation of vertebrate cellular  $Mg^{2+}$

- homeostasis by TRPM7. *Cell* 114: 191–200, 2003.
27. Aarts, M., Ihara, K., Wei, W.L., Xiong, Z.G., Arundine, M., Cerwinski, W., MacDonald, J.F., Tymianski, M. A key role for TRPM7 channels in anoxic neuronal death. *Cell* 115: 863–877, 2003.
28. Elizondo, M.R., Arduini, B.L., Paulsen, J., MacDonald, E.L., Sabel, J.L., Henion, P.D., Cornell, R.A., Parichy, D.M. Defective skeletogenesis with kidney stone formation in dwarf zebrafish mutant for *trpm7*. *Curr Biol* 15: 667–671, 2005.
29. Vriens, J., Owsianik, G., Voets, T., Droogmans, G., Nilius, B. Invertebrate TRP proteins as functional models for mammalian channels. *Pflugers Arch* 449: 213–226, 2004.
30. Sahni, J., Scharenberg, A.M. TRPM7 ion channels are required for sustained phosphoinositide 3-kinase signaling in lymphocytes. *Cell Metab* 8: 84–93, 2008.
31. Kim, B.J., Lim, H.H., Yang, D.K., Jun, J.Y., Chang, I.Y., Park, C.S., So, I., Stanfield, P.R., Kim, K.W. *Gastroenterology* 129: 1504–1517, 2005.
32. Guilbert, A., Gautier, M., Dhennin-Duthille, I., Haren, N., Sevestre, H., Ouadid-Ahidouch, H. Evidence that TRPM7 is required for breast cancer cell proliferation. *Am J Physiol Cell Physiol* 297(3):C493–502, 2009.
33. Han, S.E., Kim, J.A., Song, H.J., Chae, H., Kwon, Y.K., Kim, B.J. Effects of Carthami Flos on Human Colorectal Adenocarcinoma Cells. *Korean Journal of Oriental Medicine*. 17(2):129–134, 2011.
34. Lim, B., Lee, H.J., Kim, M.C., Kim, H.W., Kim, B.J. Effects of Apoptosis of Sophorae Radix on Human Gastric Adenocarcinoma cells. *Korean Journal of Oriental Medicine*. 18(1):85–92, 2012.
35. Lee, H.J., Kim, M.C., Lim, B., Bae, G., Kim, H.W., Kwon, Y.K., Kim, B.J. Effects of Sophorae Radix on Human Breast Adenocarcinoma Cells. *Korean Journal of Oriental Medicine*. 18(1):75–84, 2012.
36. Ahn, M.S., Moon, B.S., Kim, S.G. A Study on the Combined Effects of Several Kinds of Tonifying Prescriptions and Mitomycin C. *Korean Journal of Oriental Internal Medicine*. 15(1):60–79, 1994.
37. Hong, N.D., Kim, J.W., Kim, N.J., Kim, J.S. Studies on Combined Usage of Combined Preparation of Crude drugs and Anti - Neoplastic Drugs Natural Product Sciences. 23(2):89–95, 1992.